



## KHẢO SÁT SỰ HIỆN DIỆN GEN CTX-M, TEM VÀ SHV Ở *Escherichia coli* SINH $\beta$ -LACTAMASE PHỔ RỘNG PHÂN LẬP TỪ GÀ Ở TỈNH TRÀ VINH

Bùi Thị Lê Minh, Lưu Hữu Mạnh và Nguyễn Nhựt Xuân Dung

Khoa Nông nghiệp & Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

### Thông tin chung:

Ngày nhận: 23/07/2015

Ngày chấp nhận: 26/02/2016

### Title:

Investigation on CTX-M, TEM and SHV genes in ESBL producing *Escherichia coli* isolated from chickens in Tra Vinh province

### Từ khóa:

*Escherichia coli*, ESBL, SHV, TEM, CTX-M, Gà, Trà Vinh

### Keywords:

*E. coli*, ESBL, SHV, TEM, CTX-M, chickens, Tra Vinh province

### ABSTRACT

This study was carried out to determine the presence of CTX-M, TEM and SHV genes in *E. coli* ESBL and antimicrobial susceptibility of ESBL-producing *E. coli* isolated from liver, meat, lung and feces of 110 chickens collected from chicken households in Tra Vinh province by the combination disc methods (CLSI, 2014). The results showed that 65,45% (72/110) of chickens contained ESBL *E. coli*. 231 ESBL *E. coli* isolates were selected for the investigation of their susceptibility to 13 antimicrobial agents by the disc diffusion method. Resistance was most frequently observed to ampicillin (96,10%), cefaclor and trimethoprim + sulfamethoxazole (93,94%), cefuroxime (90,91%), streptomycin (85,28%), gentamicin (70,13%). However, the isolates were still sensitive to fosfomycin (91,77%), norfloxacin (74,03%) and ofloxacin (71,43%). Thirty multidrug-resistant ESBL *E. coli* isolates were selected for the determination of  $\beta$ -lactamase coding CTX-M, TEM, SHV genes by polymerase chain reaction. The result showed that CTX-M and TEM genes were frequently detected in the tested isolates (93,33% and 90%, respectively) and the SHV gene was detected at 16,66%. This is the first report for *E. coli* ESBL isolated from chickens in Tra Vinh province.

### TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện để khảo sát sự hiện diện của gen bla CTX-M, bla TEM và bla SHV ở vi khuẩn *E. coli* mã hóa  $\beta$ -lactamase phổ rộng ESBL và kiểm tra tính nhạy cảm của vi khuẩn đối với kháng sinh. *E. coli* sinh ESBL được phân lập từ gan, thịt, phổi và phân của 110 con gà xuất thịt từ các hộ chăn nuôi gà ở tỉnh Trà Vinh bằng phương pháp đĩa kết hợp (CLSI, 2014). Kết quả có 65,45% (72/110) gà khảo sát dương tính với *E. coli* sinh ESBL. Trong đó, tỷ lệ hiện diện của *E. coli* sinh ESBL trên mẫu phân là cao nhất (65,45%), kế đến là mẫu phổi (13,63%), thấp nhất là mẫu thịt (2,72%) và không phát hiện *E. coli* sinh ESBL trên mẫu gan. 231 chủng *E. coli* sinh ESBL được chọn để kiểm tra tính nhạy cảm đối với 13 loại kháng sinh bằng phương pháp khuếch tán trên thạch. Kết quả cho thấy các chủng của *E. coli* sinh ESBL đề kháng cao với ampicillin (96,10%), cefaclor và trimethoprim + sulfamethoxazole (93,94%), cefuroxime (90,91%), streptomycin (85,28%), gentamicin (70,13%). Tuy nhiên, các chủng vi khuẩn này còn nhạy cảm đối với fosfomycin (91,77%), norfloxacin (74,03%) và ofloxacin (71,43%). 30 chủng đa kháng được chọn để xác định các gen CTX-M, TEM và SHV mã hóa  $\beta$ -lactamase phổ rộng bằng phương pháp PCR. Kết quả gen CTX-M và TEM hiện diện phổ biến trong các chủng vi khuẩn được kiểm tra (lần lượt là 93,33% và 90%). Gen SHV hiện diện với tỷ lệ thấp 16,66%. Đây là những kết quả đầu tiên về *E. coli* sinh ESBL phân lập từ gà tại tỉnh Trà Vinh.

Trích dẫn: Bùi Thị Lê Minh, Lưu Hữu Mạnh và Nguyễn Nhựt Xuân Dung, 2016. Khảo sát sự hiện diện gen CTX-M, TEM và SHV ở *Escherichia coli* sinh  $\beta$ -Lactamase phổ rộng phân lập từ gà ở tỉnh Trà Vinh. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 42b: 1-6.

## 1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, một vấn đề đang được quan tâm là bệnh nhiễm khuẩn do vi khuẩn gram âm sinh  $\beta$ -lactamase phổ rộng (Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase: ESBL). Các ESBL có khả năng ly giải các kháng sinh nhóm  $\beta$ -lactam gây khó khăn cho việc chọn lựa kháng sinh trong điều trị. Bên cạnh đó, các nghiên cứu trên thế giới đã cho thấy rằng việc tạo ra  $\beta$ -lactamase phổ rộng là nguyên nhân chủ yếu gây gia tăng đề kháng kháng sinh ở những vi khuẩn gram âm, đặc biệt là *E. coli* và một số vi khuẩn thuộc họ vi khuẩn đường ruột *Enterobacteriaceae*. Trên thế giới đã có rất nhiều báo cáo về *E. coli* sinh ESBL trên gà được công bố. Theo nghiên cứu của Ilse Overvest *et al.* (2011), tại Hà Lan có 79,8% (68/89) mẫu thịt gà thu thập được có sự hiện diện của *E. coli* sinh ESBL. Ở Việt Nam, tình hình vi khuẩn *E. coli* đề kháng kháng sinh do sinh  $\beta$ -lactamase phổ rộng đã được nghiên cứu nhiều trên người, nhưng trên gà vẫn còn rất hạn chế. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục tiêu xác định sự hiện diện của *E. coli* sinh ESBL trên gà ở một số hộ chăn nuôi gà tại tỉnh Trà Vinh và xác định sự hiện diện gen CTX-M, TEM và SHV mã hóa  $\beta$ -lactamase phổ rộng.

## 2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

110 con gà được thu thập gồm 55 gà thịt và 55 gà đẻ ở các hộ chăn nuôi gà tại Cầu Ngang, Càng Long, Tiêu Cần, Cầu Kè và TP. Trà Vinh. Mỗi con gà thu thập bốn loại mẫu gồm thịt, gan, phổi và phân. Mẫu được cấy trên môi trường MacConkey agar có bổ sung ceftazidime 2mg/L, ủ ở 37°C trong 24 giờ. Sau nuôi cấy, các khuẩn lạc *E. coli* điển hình được khẳng định bằng kiểm tra sinh hóa indol, methyl red, voges proskauer và citrate. Việc xác định *E. coli* sinh  $\beta$ -lactamase phổ rộng bằng phương pháp đĩa kết hợp gồm ceftazidime (30  $\mu$ g) và ceftazidime (30  $\mu$ g) + clavulanic acid (10  $\mu$ g) cùng với cefotaxime (30  $\mu$ g) và cefotaxime (30  $\mu$ g) + clavulanic acid (10  $\mu$ g), thử nghiệm dương tính nếu đường kính của đĩa có clavulanic acid lớn hơn hoặc bằng 5 mm so với đĩa không có clavulanic acid (CLSI, 2014).

Các chủng vi khuẩn *E. coli* sinh ESBL phân lập được làm kháng sinh đồ bằng phương pháp khuếch tán trên thạch 13 loại kháng sinh sử dụng trong nghiên cứu gồm cefuroxime (30  $\mu$ g), cefaclor (30  $\mu$ g), gentamycin (10  $\mu$ g), streptomycin (10  $\mu$ g), kanamycin (30  $\mu$ g), amikacin (30  $\mu$ g), tetracycline (30  $\mu$ g), doxycycline (30  $\mu$ g), norfloxacin (10  $\mu$ g), ofloxacin (5  $\mu$ g), fosfomicin (50  $\mu$ g), trimethoprim

+ sulfamethoxazole (1,25/23,75  $\mu$ g). Kết quả xác định mức độ nhạy cảm, trung gian và kháng kháng sinh theo tiêu chuẩn CLSI (2014).

Các chủng vi khuẩn *E. coli* sinh ESBL đa kháng được chọn để xác định kiểu gen. Mẫu DNA của vi khuẩn được chiết tách bằng đun cách thủy khuẩn lạc trong nước cất khử ion ở 100°C trong 10 phút. Nghiên cứu sử dụng cặp mồi F: 5'-ATGAGTATTCAACATTTCCG-3' và R: 5'-TTACTGTCATGCCATCC-3' để khuếch đại đoạn gen blaTEM có chiều dài 351 bp (Rasheed *et al.*, 2000); cặp mồi F: 5'-ACTGAATGAGGCGCTTCC-3' và R: 5'-ATCCCGCAGATAAATCACC-3' để khuếch đại đoạn gen blaSHV có chiều dài 297 bp (Gniadkowski *et al.*, 1998); cặp mồi F: 5'-CGCTTTGCGATGTGCAG-3' và R: 5'-ACCGCGATATCGTTGGT-3' để khuếch đại đoạn gen blaCTX-M có chiều dài 550 bp (Bonnet *et al.*, 2000). Phản ứng khuếch đại DNA được thực hiện trong một chu trình nhiệt: tiền biến tính ở 95°C trong 4 phút, theo sau là 35 chu kỳ gồm biến tính ở 94°C trong 1 phút, gắn mồi ở 42°C trong 1 phút, kéo dài ở 72°C trong 7 phút. Sản phẩm PCR được điện di trên thạch agarose 1,5% ở 100V trong 3 giờ cho đến khi DNA ladder đạt được  $\frac{3}{4}$  chiều dài gel (Mary Ann H. Lucena *et al.*, 2012). Sau điện di, nhuộm gel bằng dung dịch ethidium bromid 1% trong 30 phút rồi rửa bằng nước cất trong 15 phút, chụp ảnh gel dưới tia UV.

Số liệu được phân tích theo phương pháp thống kê sinh học Chi square test bằng phần mềm Minitab version 16.0.

## 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1 Kết quả khảo sát sự hiện diện của *E. coli* sinh ESBL trên gà tại tỉnh Trà Vinh

Kết quả nghiên cứu ở Bảng 1 cho thấy tỷ lệ *E. coli* sinh ESBL trên gà là 65,45% trong đó gà thịt có tỷ lệ dương tính là 63,63%, gà đẻ có tỷ lệ dương tính là 67,27%. Ngoài ra, kết quả còn cho thấy tỷ lệ *E. coli* sinh ESBL trên gà ở huyện Cầu Ngang là cao nhất 81,81%, kế đến là huyện Cầu Kè, Càng Long và TP. Trà Vinh có đồng tỷ lệ 68,18%, huyện Tiêu Cần có tỷ lệ *E. coli* sinh ESBL thấp nhất 40,90%. Tuy nhiên, sự khác biệt tỷ lệ *E. coli* sinh ESBL trên gà giữa các huyện khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p=0,069$ ). Theo Vanessa Blanc *et al.* (2006) sự hiện diện của vi khuẩn sinh ESBL trong động vật nói chung và trên gà nói riêng là do sự lan truyền gen kháng thuốc qua plasmid giữa các chủng và các loài vi khuẩn,

ngoài ra việc sử dụng các kháng sinh nhóm beta-lactam trong chăn nuôi cũng tạo áp lực chọn lọc lên vi khuẩn khiến vi khuẩn trở nên đề kháng kháng sinh. Ngoài ra, tác giả còn cho rằng vi khuẩn

*E. coli* sinh ESBL trên gà là một nguồn chứa các gen mã hóa ESBL và có thể truyền sang các chủng vi khuẩn khác, trong đó có những vi khuẩn gây bệnh.

**Bảng 1: Tỷ lệ hiện diện của vi khuẩn *E. coli* ESBL trên gà ở các huyện tại tỉnh Trà Vinh**

Huyện	Tổng số gà khảo sát (con)	Gà Thịt		Gà Đẻ		Tỷ lệ chung (%)		
		Số gà khảo sát (con)	Số gà dương tính (con)	Tỷ lệ (%)	Số gà khảo sát (con)		Số gà dương tính (con)	Tỷ lệ (%)
Tiêu Cần	22	11	4	36,36 <sup>a</sup>	11	5	45,45 <sup>a</sup>	40,90 <sup>a</sup>
Cầu Kè	22	11	7	63,63 <sup>ab</sup>	11	8	72,72 <sup>a</sup>	68,18 <sup>a</sup>
Càng Long	22	11	5	45,45 <sup>a</sup>	11	10	90,90 <sup>a</sup>	68,18 <sup>a</sup>
Thành phố Trà Vinh	22	11	9	81,81 <sup>b</sup>	11	6	54,54 <sup>a</sup>	68,18 <sup>a</sup>
Cầu Ngang	22	11	10	90,90 <sup>b</sup>	11	8	72,72 <sup>a</sup>	81,81 <sup>a</sup>
Tổng	110	55	35	63,63	55	37	67,27	65,45

<sup>a,b,c</sup>: Những giá trị mang chữ cái khác nhau trên cùng một cột thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ )

**3.2 Kết quả khảo sát sự hiện diện của *E. coli* sinh ESBL trên thân thịt và phân gà**

Kết quả ở Bảng 2 cho thấy tỷ lệ hiện diện *E. coli* sinh ESBL trên phân, phổi, thịt trên gà lần lượt

là 65,45%, 13,63%, 2,72% và không phát hiện *E. coli* sinh ESBL trên mẫu gan. Qua so sánh thống kê về tỷ lệ *E. coli* sinh ESBL giữa các loại mẫu khác nhau có ý nghĩa thống kê ( $p = 0,000$ ).

**Bảng 2: Tỷ lệ hiện diện của vi khuẩn *E. coli* sinh ESBL trên thân thịt và phân gà**

Loại mẫu	Tổng mẫu khảo sát	Gà Thịt			Gà Đẻ			Tỷ lệ chung (%)
		Số mẫu khảo sát	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ %	Số mẫu khảo sát	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ %	
Phân	110	55	35	63,63	55	37	67,27	65,45 <sup>b</sup>
Thịt	110	55	3	5,45	55	0	0	2,72 <sup>a</sup>
Gan	110	55	0	0	55	0	0	0 <sup>a</sup>
Phổi	110	55	6	10,90	55	9	16,36	13,63 <sup>c</sup>
Tổng	440	220	44	20,00	220	46	20,90	20,45

<sup>a,b,c</sup>: Những giá trị mang chữ cái khác nhau trên cùng một cột thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ )

Theo Leverstein-van Hall *et al.* (2011) cho thấy trong số các vi khuẩn sinh ESBL phân lập được từ các mẫu thịt gà bán lẻ, có 39% *E. coli* sinh ESBL mang kiểu gen tương tự với kiểu gen phân lập được ở các mẫu bệnh phẩm trên người. Điều này chứng tỏ sự lan truyền gen kháng thuốc của vi khuẩn sang người có thể thông qua chuỗi thức ăn. Kết quả nghiên cứu ở Bảng 2 có sự hiện diện *E. coli* sinh ESBL trên mẫu thịt gà với tỷ lệ 2,72%, mà thịt gà là một trong những nguồn thực phẩm phổ biến đứng thứ hai sau thịt heo, đồng thời tỷ lệ hiện diện *E. coli* sinh ESBL trên mẫu phân là 65,45%, do đó đối với vấn đề vệ sinh an toàn thực phẩm cần chú ý vệ sinh trong quy trình giết mổ để tránh vi khuẩn vậy nhiễm từ phân vào thịt gà và để tránh vậy nhiễm vi khuẩn một cách trực tiếp hoặc gián tiếp từ gà sang người và phát tán vi khuẩn ra môi trường xung quanh.

**3.3 Kết quả kiểm tra độ nhạy của *E. coli* sinh ESBL đối với kháng sinh**

Kết quả nghiên cứu cho thấy vi khuẩn *E. coli* sinh ESBL còn nhạy cảm cao với fosfomycin (91,77%), norfloxacin (74,03%) và ofloxacin (71,43%) trong khi đó đề kháng rất cao với các kháng sinh nhóm  $\beta$ -lactam, cụ thể là ampicillin (96,10%), cefaclor (93,94%) và cefuroxime (90,91%). Kết quả bảng 3 cũng cho thấy vi khuẩn còn đề kháng cao với trimethoprim + sulfamethoxazol (93,94%), streptomycin (85,28%) và gentamicin (70,13%). Qua kết quả này cho thấy *E. coli* sinh ESBL phân lập trên gà ở tỉnh Trà Vinh không chỉ đề kháng với nhóm kháng sinh  $\beta$ -lactam mà còn kháng với các nhóm kháng sinh khác. Theo Võ Văn Ninh (2001), điều đáng lo là vi khuẩn đề kháng kháng sinh có thể phát triển sự kháng chéo với kháng sinh trong cùng họ và các tính chất di

truyền cũng như tính đề kháng từ một nhóm vi khuẩn này có thể truyền sang một nhóm hoặc loài vi khuẩn khác trong môi trường, đặc biệt là giữa các vi khuẩn đường ruột gram âm do vậy có những vi khuẩn chưa bao giờ tiếp xúc với kháng sinh

nhưng đã mang trong mình tính đề kháng do một vi khuẩn khác truyền sang. Điều này làm cho chủng loại và số lượng vi khuẩn gram âm sinh ESBL có thể lan rộng khiến việc điều trị các bệnh nhiễm khuẩn gặp nhiều khó khăn hơn.

**Bảng 3: Tỷ lệ E. coli sinh ESBL đề kháng với kháng sinh**

Tên kháng sinh	Số chủng kiểm tra (n=231)					
	Nhạy		Trung gian		Kháng	
	Số chủng	Tỷ lệ (%)	Số chủng	Tỷ lệ (%)	Số chủng	Tỷ lệ (%)
Ampicillin	7	3,03	2	0,87	222	96,10
Cefuroxime	11	4,76	10	4,33	210	90,91
Cefaclor	11	4,76	3	1,30	217	93,94
Gentamicin	57	24,68	12	5,19	162	70,13
Streptomycin	23	9,96	11	4,76	197	85,28
Kanamycin	142	61,47	9	3,90	80	34,63
Amikacin	148	64,07	1	0,43	82	35,50
Tetracycline	123	53,25	57	24,67	51	22,08
Doxycycline	73	31,60	103	44,59	55	23,81
Norfloxacin	171	74,03	17	7,36	43	18,61
Ofloxacin	165	71,43	19	8,23	47	20,35
Fosfomycin	212	91,77	2	0,87	17	7,36
Trimethoprim+sulfamethoxazole	12	5,19	2	0,87	217	93,94

**3.4 Kết quả khảo sát sự hiện diện gen CTX-M, TEM và SHV mã hóa ESBL**

Bảng 4 cho thấy 30 chủng E. coli đa kháng được chọn để xác định gen thì sự hiện diện của gen CTX-M là phổ biến (93,33%), kế đến là gen TEM (90%) và gen SHV có tỷ lệ hiện diện thấp (16,66%). Trong đó có 90% (27/30) chủng vi khuẩn mang đồng thời hai gen TEM và CTX-M, các kiểu nhiễm ghép hai gen TEM và SHV, CTX-M và SHV có đồng tỷ lệ là 16,66% và 16,66% (5/30) chủng vi khuẩn mang đồng thời ba gen TEM, CTX-M và bla SHV (bảng 5). Kết quả nghiên cứu của Ilse Overdeest *et al.* (2011) tại Hà Lan cho thấy gen CTX-M-1 là gen có sự hiện diện cao nhất trong các chủng E. coli sinh ESBL cả trên gà và trên người, điều đáng quan tâm là qua kỹ thuật Multilocus sequence typing (MLST) cho thấy rằng các chủng E. coli sinh ESBL mang gen CTX-M-1 trên thịt gà và trên người trong nghiên cứu của tác giả có sự giống nhau, chứng tỏ gen đề kháng kháng sinh có thể từ gà truyền sang người. Điều này cũng phù hợp với nhận định của Eze

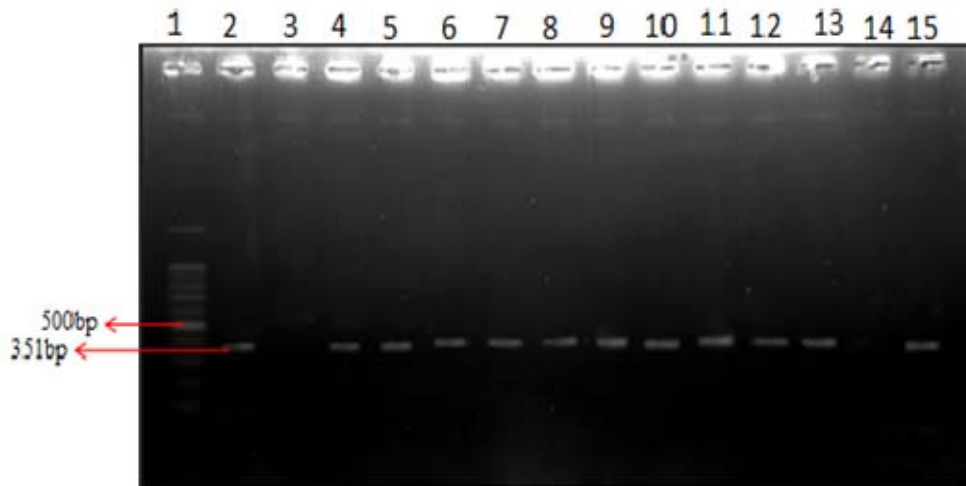
Emmanuel *et al.* (2013), tác giả cũng cho rằng các gen kháng thuốc có thể được truyền từ các vi khuẩn trên động vật sang con người và điều này là một mối nguy cơ rất lớn cho sức khỏe cộng đồng.

**Bảng 4: Tỷ lệ hiện diện gen CTX-M, TEM và SHV**

Kiểu gen	Số chủng vi khuẩn kiểm tra (n=30)	
	Số chủng vi khuẩn dương tính	Tỷ lệ (%)
CTX-M	28	93,33
TEM	27	90,00
SHV	5	16,66

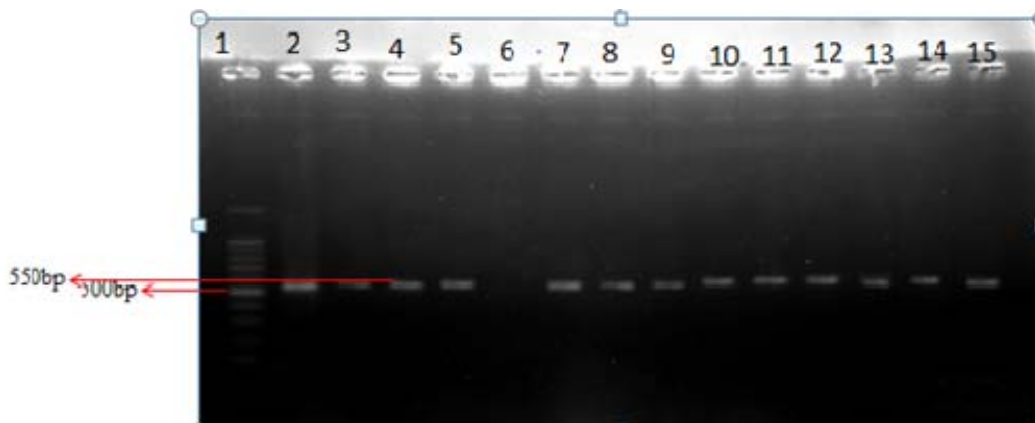
**Bảng 5: Tỷ lệ ghép các gen CTX-M, TEM và SHV trên một chủng vi khuẩn**

Kiểu gen	Số chủng vi khuẩn kiểm tra (n=30)	
	Số chủng vi khuẩn dương tính	Tỷ lệ (%)
TEM + SHV	5	16,66
TEM + CTX-M	27	90,00
SHV + CTX-M	5	16,66
TEM + SHV + CTX-M	5	16,66



**Hình 1: Kết quả điện di sản phẩm PCR xác định gen bla TEM**

Ghi chú: 1 (ladder), 2 (đối chứng dương), 3 (TTW51B), 4 (TTP7F), 5 (TTT9B), 6 (TTP11E), 7 (TTW31B), 8 (TTW44C), 9 (TTW19F), 10 (TTW27B), 11 (TTW15F), 12 (TTW13C), 13 (TTW51I), 14 (TTW22C), 15 (TTW15G)



**Hình 2: Kết quả điện di sản phẩm PCR xác định gen bla CTX-M**

Ghi chú: 1 (ladder), 2 (đối chứng dương), 3 (TTW51B), 4 (TTP7E), 5 (TTT9B), 6 (TTP11E), 7 (TTW31B), 8 (TTW44C), 9 (TTW19F), 10 (TTW27B), 11 (TTW15F), 12 (TTW13C), 13 (TTW51I), 14 (TTW22C), 15 (TTW15G)

#### 4 KẾT LUẬN

Đây là báo cáo đầu tiên cho thấy có sự hiện diện của *E. coli* sinh ESBL và các gen CTX-M, TEM và SHV trên gà ở tỉnh Trà Vinh. Kết quả này sẽ là bước đầu cho sự nghiên cứu mối liên quan và vai trò của vi khuẩn *E. coli* như nguồn mang và lan truyền các gen đề kháng kháng sinh trong cộng đồng.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

Bonnet R., Sampaio J.L.M., Labia R., De Champs C., Sirot D., Chanal C., Sirot J., 2000. A novel CTX-M  $\beta$ -lactamase (CTX-M-8) in cefotaxime-resistant

Enterobacteriaceae isolated in Brazil. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 44 (7):1936-1942.

Clinical and Laboratory Standards Institute [CLSI], 2014. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-second informational supplement. Clinical and Laboratory Standards Institute. M100-S24, 34 (1): 50-57&110-112.

Emmanuel Eze, Nwakeze Emmanuel, Oji Anthonia, Ejikeugwu Chika, Iroha Ifeanyichukwu, 2013. Microbiological investigation of *Escherichia coli* isolates from cloacal and fecal swabs of broiler

- chickens for extended spectrum beta lactamase (ESBL) enzymes. IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences, Volume 7, Issue 5, pp 96 - 99.
- Gniadkowski Marek, Pawel Grzesiowski, Pawel Grzesiowski, Andwaleria Hryniewicz, 1998. Outbreak of ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumoniae* in a pediatric hospital, in Warsaw, Poland: clonal spread of the TEM-47 extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL) producing strain and transfer of a plasmid carrying the SHV-5-like ESBL-encoding gene. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 42(12):3079-3085.
- Overdeest Ilse, Ina Willemsen, Martine Rijnsburger, Andrew Eustace, Li Xu, Peter Hawkey, Max Heck, Paul Savelkoul, Christina Vandenbroucke-Grauls, Kim van der Zwaluw, Xander Huijsdens, and Jan Kluytmans, 2011. Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase Gens of *Escherichia coli* in Chicken Meat and Humans, the Netherlands. *Emerging Infectious Diseases* Vol. 17, No. 7, pp 1216 – 1222.
- Leverstein-van Hall, M A; Dierikx, C M; Cohen Stuart, J; Voets, G M; van den Munckhof, M P; van Essen-Zandbergen, A; Platteel, T; Fluit, A C; van de Sande-Bruinsma, N; Scharinga, J; Bonten, M J M; Mevius, D J; 2011. Dutch patients, retail chicken meat and poultry share the same ESBL genes, plasmids and strains. *Clinical Microbiology and Infection*, 17 (6): 873-880.
- Lucena Mary Ann H., Ephrime B. Metillo, and Jose M. Oclarit, 2012. Prevalence of CTX-M Extended spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae at a Private Tertiary Hospital in Southern Philippines. *Philippine Journal of Science*. 141 (1): 117-121.
- Rasheed J.K., Anderson G.J., Yigith H., Queenan A.M., Doménech-Salınchez A., Swenson J.M., Biddle J. W., Jacoby G. A., Tenover F. C., 2000. Characterization of the extended-spectrum  $\beta$ -lactamase reference strain, *Klebsiella pneumoniae* K6 (ATCC 700603), which produces the novel enzyme SHV-18. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 44 (9): 2382-2388.
- Blanc Vanessa, Raul Mesa, Montserrat Saco, Susana Lavilla, Guillem Prats, Elisenda Miró, Ferran Navarro, Pilar Cortés, Montserrat Llagostera, 2006. ESBL- and plasmidic class C  $\beta$ -lactamase-producing *E. coli* strains isolated from poultry, pig and rabbit farms. *Veterinary Microbiology* 118, pp 299 – 304.
- Võ Văn Ninh, 2001. Kháng sinh trong thú y. Nhà xuất bản Trẻ. Trang 20 – 21.